УДК 576.893.195 : 591.4 «Паразитология», т. 35, вып. 2, 2001

УТОЧНЕНИЕ ДИАГНОЗА ISSIA GLOBULIFERA (MICROSPORIDEA, NOSEMATIDAE) НА ОСНОВЕ ДАННЫХ ПО УЛЬТРАСТРУКТУРЕ МИКРОСПОРИДИИ

© И. В. Исси, Т. Ф. Панкова, Ю. Я. Соколова

Впервые дано описание ультратонкого строения микроспоридии, отнесенной к малоизученному роду *Issia*.

Первое описание *I. globulifera* (Исси, Панкова, 1983) из эпителия кишечника личинок и куколок малярийного комара рода *Anopheles*, собранных в водоемах Томского Приобья, сделано на основании световой микроскопии мазков, окрашенных по Романовскому—Гимза. Вследствие того что заражение микроспоридиями кишечника насекомых не сопровождается ярко выраженными симптомами (в отличие от заражения жирового тела), получить дополнительный материал по этому виду для электронного микроскопирования оказалось затруднительным. Недавно при проведении исследований другого характера микроспоридия была случайно найдена вновь, но условия фиксации не соответствовали необходимым для полноценного описания ультратонкой морфологии вида. Вместе с тем полученные данные представляют интерес, они дополняют и уточняют первоописание.

Ультратонкая организация *Issia globulifera*

На срезах кишечника личинки комара *Anopheles messae* присутствуют как стадии поздней мерогонии, так и стадии спорогонии.

Меронты представлены сохраняющими контакты амебоидными клетками, размером 3—3.5 × 2—2.5 мкм. Они беспорядочно ориентированы и образуют скопление (рис. 1, *А*), возможно представляющее результат деления сферического мерогонального плазмодия, отмеченного при световом микроскопировании. Клеточная оболочка на местах соединений клеток утолщена, каждая клетка контактирует с несколькими другими. Меронты лежат в непосредственном контакте с цитоплазмой клетки хозяина и окружены многочисленными митохондриями. Лентовидных мерогональных плазмодиев на срезах не обнаружено.

Споронт, также сохраняющий контакт с цитоплазмой клетки хозяина, делится на 2 линейно расположенных споробласта (рис. 1, *Б*; см. вкл.). Основания двух разделившихся клеток (впоследствии задние полюса спор) остаются соединенными. На месте соединения клеток видны пузырьки, связанные с цитоплазматической мембраной, по нашим представлениям, это парамуральные (пристеночные) тельца. Их основная функция заключается в продуцировании внешнего слоя цитоплазматической мембраны при образовании спорогонального плазмодия (Vavra, 1976), соответствующего при дальнейшем развитии паразита внешнему слою экзоспоры.

Образование споробластов сопровождается быстрым разрастанием электронноплотного слоя (представляющего зачаток сферы) на участке соединения двух клеток (рис. 1, *Б*). Увеличивающаяся в размерах сфера сдвигает споробласты, располагая их теперь под острым углом друг к другу в виде латинской буквы «v», и цементирует задние полюса клеток. Крайне редко споронт делится на 4 споробласта или не делится совсем. Оболочка споронтов и споробластов имеет типичную двумембранную структуру. Ядра на всем протяжении спорогонии расположены попарно, как у типичных представителей рода *Nosema* (рис. 1, *Б, В*; 2, *Б*; см. вкл.).

В отличие от меронтов и споронтов споробласты и споры окружены широкой электронно-прозрачной зоной, заполненной структурами трубчатой и сферической формы (рис. 1, *В, Г*; 2). По периферии этой зоны, не ограниченной мембранами, расположены многочисленные митохондрии клетки хозяина.

Образование сферы, в которую погружены задние полюса зрелых спор (наиболее часто двух, редко одной или четырех), начинается сразу после деления споронта, но быстрое увеличение ее объема приурочено к спорогенезу. При просмотре последовательных стадий спорогонии и спорогенеза микроспоридии создается впечатление, что сферу образует быстро утолщающаяся внешняя мембрана экзоспоры, при этом ее внутренняя мембрана остается тесно прилегающей к эндоспоре. Сфера значительно крупнее споры, достигая в поперечнике 6—8 мкм, и представлена гомогенным бесструктурным материалом умеренной электронной плотности, не ограниченным какими-либо оболочками (рис. 2, *А, Б*).

Споры размером 2.5—3 × 2—2.3 мкм имеют характерное для нозематид строение (рис. 2). Полярный диск, имеющий в поперечнике около 170 нм, скорее сферической, чем грибовидной формы. Поляропласт пластинчатый, занимает почти половину объема споры, по всей длине ограничен полярным саком. Два ядра расположены по длинной оси споры. Основание полярной трубки фурковидной формы. Полярная трубка очень тонкая, не превышающая 25—40 нм в поперечнике, гетерофилярная, образует 12 витков разного строения (8 + 4), уложенных в 2 ряда. Задняя вакуоль отсутствует. Эндоспора очень толстая, до 250—400 нм у зрелых спор. Экзоспора образована двумя мембранами, внешний слой имеет сильную, а внутренний — умеренную электронную плотность. Она покрывает спору на 2/3—4/5 длины, незаметно переходя в сферу.

Для этого вида характерна концентрация вокруг всех стадий многочисленных митохондрий хозяина, что, вероятно, обусловлено большими затратами клетки хозяина на энергетические процессы и пластические вещества, необходимые паразиту для образования сферы, имеющей значительный объем.

На основании полученных нами данных по ультратонкому строению микроспоридии мы приводим уточненный диагноз этого вида.

Диагноз *Issia globulifera*

Типовой хозяин: *Anopheles messae*, личинки, куколки.

Локализация: эпителий кишечника.

Место обнаружения: Сибирь, Томское Приобье.

Стадии развития. Все стадии развития имеют диплокариотический ядерный аппарат. Мерогональный плазмодий образован несколькими беспорядочно ориентированными контактирующими клетками. Споронт дает начало обычно 2, реже 1 или 4 споробластам, остающимся соединенными сферой, образованной разрастанием внешней оболочки цитоплазматической мембраны. Сфера представлена гомогенным веществом умеренной электронной плотности, в поперечнике достигает 6—8 мкм. Спорофорный пузырек не образуется. Спора имеет размеры 2.5—3 × 2—2.3 мкм и типичное для нозематид строение. Полярная трубка очень тонкая, 25—40 нм, гетерофилярного строения, образует 12 витков (8 + 4), расположенных в 2 слоя. Эндоспора достигает толщины 250—400 нм.

Типовой материал представлен в коллекции ВИЗР электронограммами: 2301, 2303, 2308, 2311—2313, 2532 и 2533.

Таким образом, в первоописание вида внесены существенные поправки. Показаны: (1) другой вид хозяина, установленный на основании хромосомного анализа, (2) отсутствие лентовидных мерогональных плазмодиев, (3) отсутствие спорофорного пузырька. Последнее соответствует одной из характеристик, включенных в диагноз типового вида рода *Issia* — *I. trichopterae*, описанного на светомикроскопическом уровне (Weiser, 1977). Диагноз описываемого вида дополнен данными по тонкому строению диплоспоры, уникальной для диплокариотических микроспоридий.

Список литературы

Исси И. В., Панкова Т. Ф. Новый вид микроспоридий Issia globulifera sp. n. из малярийного комара Anopheles maculipennis // Паразитология. 1983. Т. 17, № 3. С. 189—194.

Vavra J. The occurence of paramural bodies in Microsporidia // J. Protozool. 1976. Vol. 23, N 4, abstr. 21. P. 63.

Weiser J. Contribution of the classification of Microsporidia // Vestn. Čs spolec. zool. 1977. Vol. 41, N 4. P. 308—320.

ВИЗР, Санкт-Петербург—Пушкин 189620

Поступила 18.09.2000

REFINEMENT OF THE DIAGNOSIS OF ISSIA GLOBIFERA (MICROSPORIDIA: NOSEMATIDAE) BASED ON ULTRASTRUCTURAL DATA

I. V. Issi, T. F. Pankova, Yu. Ya. Sokolova

Key words: Microsporidia, Nosematidae, *Issia*, Culicidae, *Anopheles*, ultrastructure, midgut epithelium.

SUMMARY

An ultrastructure of a microsporidian belonging to the aberrant and poorly studied genus *Issia* is discribed in this paper. The first description of *Issia globulifera* (Issi, Pankova, 1983) was made on the basis of light microscopic analysis of midgut smears of the infected insects.

Both late merogonic and sporogonic stages can be met on the sections from midguts of *Anopheles messae*. Meronts are ameba-like cells (3.0—3.5 × 2.0—2.5 μm) forming conglomerates of cells without any regular organization. Meronts and sporonts directly contact with the host cell cytoplasm; they are surrounded by numerous mitochondria. Sporonts divide into 2 sporoblasts, but remain connected with each other by posterial ends. In the vicinity of the contact the paramural bodies (structures, presumably participating in the formation of the exospore) can be seen. Sporoblast morphogenesis is accompanied by the rapid grow of electron dense layer in the region of the contact of two sister sporoblasts. Due to such intensive growth the sporoblasts are finally located at sharp angle to each other. Envelopes of sporonts and sporoblasts possess typical 2-membrane structure. Their nuclei lay in pairs like in *Nosema* species. Sporoblasts (unlike meronts and sporonts) are surrounded by the electron lucid zone of the cytoplasm with numerous tubule-like and spherical inclusions. Host mitochondria are closely adjacent to the periphery of this zone. The formation of characteristic spherical structures (globules), in which the posterior ends of two (in rare cases of 1

or 4) sister spores are downsinked, starts immediately after the sporont division. Globules rapidly increase in size during the sporogenesis. The homogenous globule (6—8 µm), which is essentially larger than a spore, seems to represent the modified exospore; it is not limited by any visible membrane. Fine structure of spores (2.5—3.0 × 2.0—2.3 µm) is typical for the nosems: spherical polar disk; lamellas polaroplast; nuclei located along the long spore axis; basal part of a polar tube forming a fork. A thin (25—40 nm) heterophilar polar filament forms 12 rows of various structure (8 + 4) packed in two rows. The posterior vacuole was no revealed. Endospore is very thick up to 250—400 nm in mature spores. The exospore covering the 2/3—4/5 of the spore length passes into the globule on the posterior end.

The refined diagnosis of *Issia globulifera*: type host species — *Anopheles messae* (larvae, pupae); tissue localization: mitgut epithelium; terra typica: Siberia, Tomsk region, Ob river basin; developmental stages: multicellular merogonial plasmodium, sporont gives rise to 2 (rarely 1 or 4) sporoblasts connected with each other by a «globule», a specific formation homologous to an exospore of other microsporidians; globule (6—8 µm) possesses a homogenous inner structure of average electron density; sporophorous vesicle not formed; spore structure is typical for Nosematidae. Embeddings, negatives (## 2301, 2303, 2308, 2311—2313, 2532, 2533) and photos of type material in the collection of All-Russian Institute for Plant Protection.

Вклейка к ст. И. В. Исси и др.

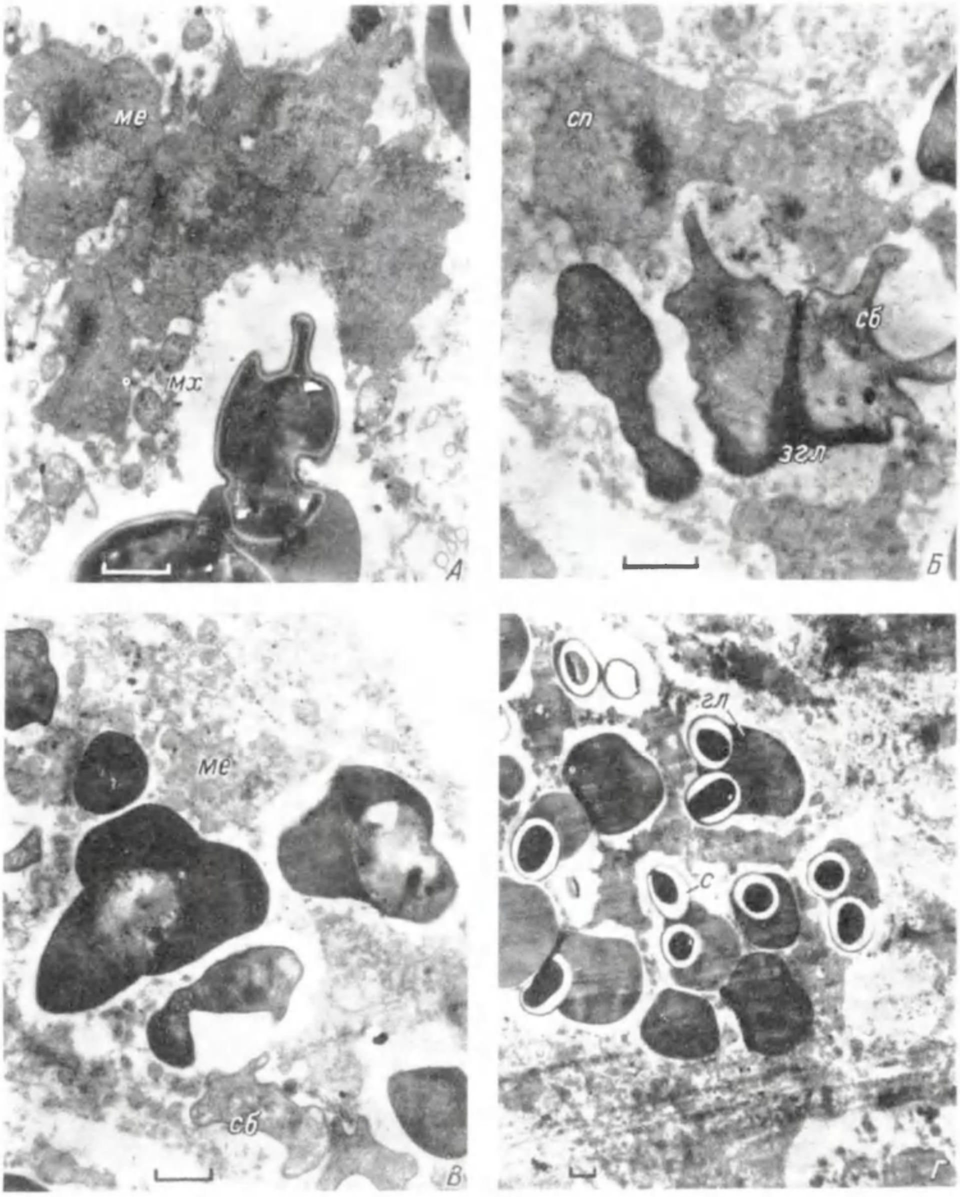

Рис. 1. Тонкое строение стадий развития *Issia globulifera*.

А — мерогональный плазмодиум, окруженный многочисленными митохондриями; *Б* — споронт с двумя формирующимися споробластами: два споробласта (стрелки) в момент формирования зародышевой сферы; *В* — молодые споры; *Г* — зрелые споры в кишечном эпителии; *гл* — сфера (глобула); *згл* — зародышевая сфера (глобула); *ме* — меронт; *мх* — митохондрии клеток хозяина; *с* — спора; *сб* — споробласт; *сп* — споронт. Масштабная линейка 1 мкм.

Fig. 1. Ultrastructure of *Issia globulifera* developmental stages.

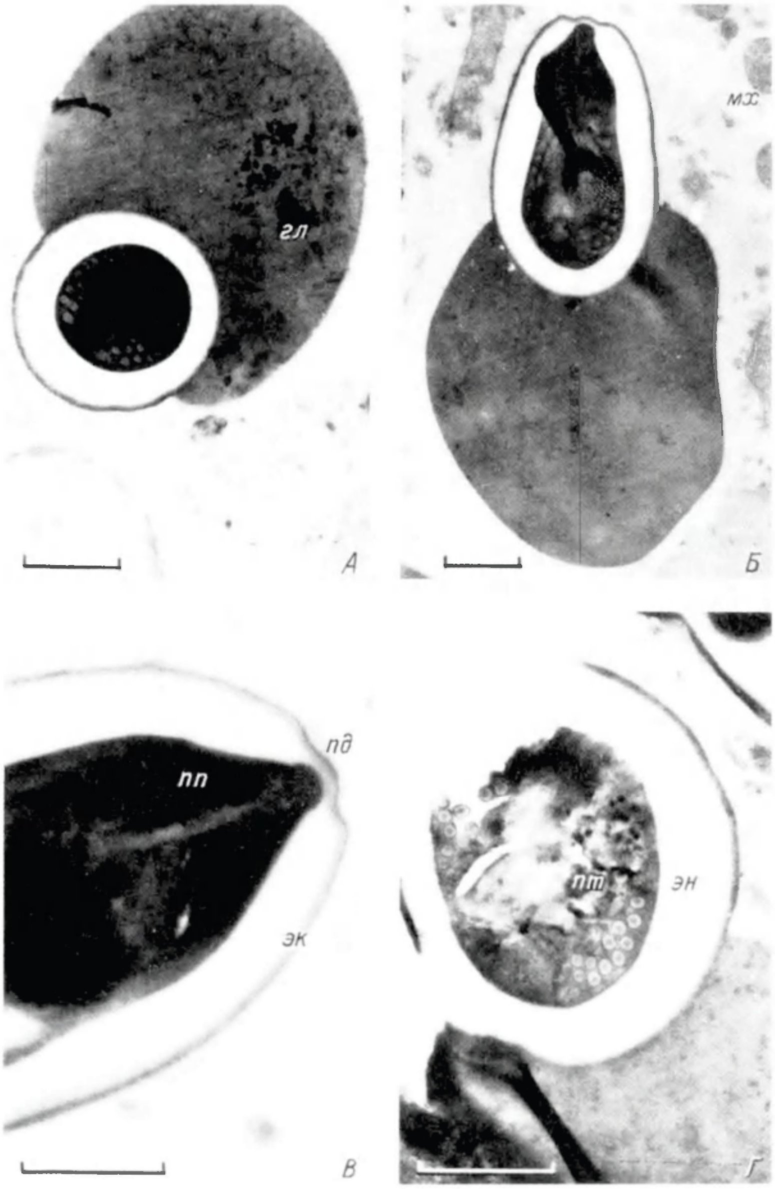

Рис. 2. Тонкое строение диплоспор *Issia globulifera*.

А — поперечный срез через зрелую спору; ***Б*** — продольный срез через зрелую спору; ***В*** — передний полюс зрелой споры; ***Г*** — задний полюс зрелой споры; ***пд*** — полярный диск; ***пп*** — поляропласт; ***пт*** — полярная трубка; ***эк*** — экзоспора; ***эн*** — эндоспора. Масштабная линейка: ***А, Б*** — 1 мкм, ***В, Г*** — 0.5 мкм.

Остальные обозначения такие же, как на рис. 1.

Fig. 2. Ultrastructure of *Issia globulifera* diplospores.